

ХИНОНОПОСРЕДОВАННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В МИТОХОНДРИЯХ КЛЕТОК ГЛИОМЫ

Крылова Н.Г., Кулагова Т.А., Семенкова Г.Н.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Активные формы кислорода (АФК), продуцируемые митохондриями, участвуют в регуляции клеточного цикла, апоптоза и дифференцировки. В опухолевых клетках нарушается протекание этих процессов, ассоциированное, в том числе, с митохондриальной дисфункцией. На фоне снижения образования АТФ в опухолевых клетках, повышается величина трансмембранного потенциала и продукция АФК в митохондриях. В настоящее время митохондрии рассматриваются как перспективная мишень противоопухолевой терапии. Соединения, имеющие в своей структуре хиноидное кольцо, способны изменять протекание редокс-процессов в митохондриях, регулируя их функционирование. Целью работы было выявить механизмы действия хинонов на продукцию супероксидных анион-радикалов митохондриями клеток глиомы.

Генерацию $O_2^{\cdot -}$ митохондриями клеток глиомы крысы линии С6 регистрировали флуоресцентным методом с использованием флуоресцентного зонда mitoSOX (*Invitrogen*, Германия). Полученные результаты представлены в Таблице 1. Видно, что продукция $O_2^{\cdot -}$ в митохондриях повышается в 2,4 раза при действии 1,4-бензохинона (БХ), и, наоборот, снижается в 2,9, 1,9 и 1,4 раза при добавлении менадиона, 2,3,5-триметил-БХ (ТМБХ) и коэнзима Q_0 (CoQ_0), соответственно.

Для выявления механизмов действия хинонов был проведен ингибиторный анализ с использованием специфических ингибиторов различных участков электрон-транспортной цепи (ЭТЦ): комплекса I (ротенон), сукцинатдегидрогеназы (теноилтрифторацетон, ТТФА) и комплекса III (антимидин А), и ингибитора фермента двухэлектронного восстановления хинонов (дикумарол). Установлено, что БХ-усиленная продукция $O_2^{\cdot -}$ митохондриями незначительно снижается при ингибировании комплекса I и практически не зависит от ингибирования ЭТЦ в других сайтах. Известно, что БХ эффективно участвует в реакциях нуклеофильного присоединения, что приводит к частичному ингибированию комплекса I и истощению пула митохондриального GSH. Как следствие этого, концентрация АФК в митохондриях повышается.

Таблица 1 – Суммарный выход $O_2^{\cdot-}$ за 40 мин ($\Sigma_{40}O_2^{\cdot-}$) в присутствии 10 мкмоль/л хинонов при ингибировании различных участков ЭТЦ митохондрий и ДТ-диафоразы

$\Sigma_{40}O_2^{\cdot-}, \%$							
<i>Ротенон</i>	–	+	–	+	–	+	–
<i>ТТФА</i>	–	–	+	+	–	–	–
<i>Антимицин А</i>	–	–	–	–	+	+	–
<i>Дикумарол</i>	–	–	–	–	–	–	+
Дмсо	100	95±3	81±5	88±6	150±18	113±15	103±13
БХ	236±62	187±33	271±50	282±51	252±40	219±35	455±100
ТМБХ	53±3	51±6	43±12	42±5	140±20	85±20	61±10
СоQ ₀	70±10	92±14	58±4	38±1	90±10	87±6	240±64
Менадион	35±15	51±12	21±6	30±8	43±10	26±14	187±55

Ингибиторный анализ показал, что механизмы снижения генерации $O_2^{\cdot-}$ при добавлении ТМБХ, менадиона и СоQ₀ различны. Выявлено, что ТМБХ-опосредованное снижение выхода митохондриальных $O_2^{\cdot-}$ не наблюдается при ингибировании комплекса III ЭТЦ (уровень генерации АФК остается таким же как в контрольном образце). Это свидетельствует о том, что ТМБХ ингибирует продукцию $O_2^{\cdot-}$ в комплексе III. СоQ₀-зависимое уменьшение продукции $O_2^{\cdot-}$ в митохондриях не наблюдается при действии ротенона, как при прямом (в отсутствие антимицина А), так и при обратном (при ингибировании комплекса III антимицином А) потоке электронов. Таким образом, СоQ₀ препятствует образованию $O_2^{\cdot-}$ в комплексе I ЭТЦ. Менадион приводит к снижению интенсивности свободно-радикальных процессов в митохондриях независимо от ингибирования различных сайтов ЭТЦ.

Установлено, что в присутствии дикумарола повышается продукция $O_2^{\cdot-}$ в митохондриях при действии БХ, СоQ₀ и менадиона, но не ТМБХ. Это свидетельствует о том, что двухэлектронное восстановление защищает клетки глиомы от хинониндуцированной генерации АФК в митохондриях. Снижение выхода $O_2^{\cdot-}$ при добавлении СоQ₀ и менадиона обусловлено антиоксидантным действием данных хинонов в восстановленной дигидроформе.

Таким образом, арилирующие хиноны (БХ) способны индуцировать окислительный стресс в митохондриях клеток глиомы, в то время как редокс-активные хиноны (ТМБХ, менадион и СоQ₀) в условиях эффективного внутриклеточного восстановления снижают продукцию $O_2^{\cdot-}$ в различных участках ЭТЦ.